

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005 年 7 月 14 日 (14.07.2005)

PCT

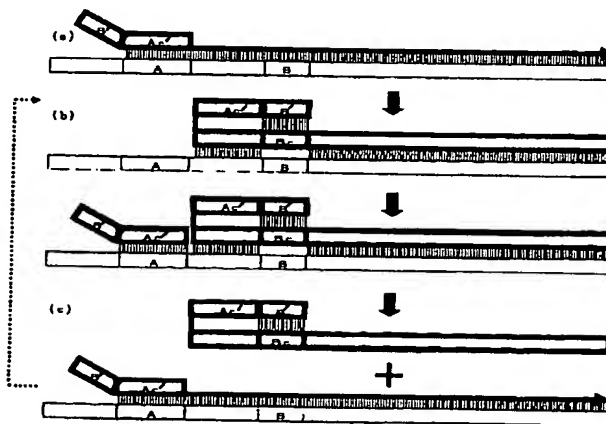
(10) 国際公開番号
WO 2005/063977 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/00, C12Q 1/68, G01N 33/53, 33/566
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/019346
- (22) 国際出願日: 2004 年 12 月 24 日 (24.12.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2003-431003 2003 年 12 月 25 日 (25.12.2003) JP
特願 2004-313910 2004 年 10 月 28 日 (28.10.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 Saitama (JP). 株式会社ダナフォーム (KABUSHIKI KAISHA DNAFORM) [JP/JP]; 〒1080073 東京都港区三田 1 丁目 3 番 3 5 号 Tokyo (JP). 湧永製薬株式会社 (WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5320003 大阪府大阪市淀川区宮原四丁目 5 番 3 6 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 三谷 康正 (MITANI, Yasumasa) [JP/JP]; 〒7391105 広島県安芸高田市甲田町下甲立 1 6 2 4 湧永製薬株式会社内 Hiroshima (JP). 岡 孝紀 (OKA, Takanori) [JP/JP]; 〒7391105 広島県安芸高田市甲田町下甲立 1 6 2 4 湧永製薬株式会社内 Hiroshima (JP). 林崎 良英 (HAYASHIZAKI,

/続葉有/

(54) Title: METHOD OF AMPLIFYING NUCLEIC ACID AND METHOD OF DETECTING MUTATED NUCLEIC ACID USING THE SAME

(54) 発明の名称: 核酸の増幅法およびこれを利用した変異核酸の検出法



(57) **Abstract:** A primer set with which a target nucleic acid can be specifically and efficiently amplified. This primer set contains at least two primers enabling the amplification of the target nucleic acid. The first primer contained in the primer set has a sequence (Ac') hybridizable with the 3' -terminal sequence (A) of the target nucleic acid sequence in the 3' -terminal part, and a sequence (B') hybridizable with a sequence (Bc) complementary to a sequence (B), which is located in the 5' -side of the above-described sequence (A) in the target nucleic acid sequence, in the 5' -side of the above-described sequence (Ac'). The second primer contained in the primer set has a sequence (Cc') hybridizable with the 3' -terminal sequence (C) in a sequence complementary to the above-described target nucleic acid sequence in the 3' -terminal part, and a repetitive sequence (D-Dc') having two nucleic acid sequences hybridizable with each other on a single chain in the 5' -side of the above-described sequence (Cc').

(57) 要約: 本発明は、標的核酸を特異的かつ効率的に増幅しうるプライマーセットに関する。本発明によるプライマーセットは、標的核酸配列を増幅しうる少なくとも二種のプライマーを含んでなるものである。前記プライマーセットに含まれる第一のプライマーは、標的核酸配列の 3' 末端部分の配列

/続葉有/

WO 2005/063977 A1



Yoshihide) [JP/JP]; 〒3050061 茨城県つくば市稲荷
前2-2-8 Ibaraki (JP). 林利蔵 (HAYASHI, Toshizo)
[JP/JP]; 〒1080073 東京都港区三田1丁目3番35号
株式会社ダナフォーム内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 吉武 賢次, 外(YOSHITAKE, Kenji et al.); 〒
1000005 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 富士
ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護
が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部
分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(A) にハイブリダイズする配列 (Ac') を 3' 末端部分に含んでなり、かつ前記標的核酸配列において前記配列
(A) よりも 5' 側に存在する配列 (B) の相補配列 (Bc) にハイブリダイズする配列 (B') を前記配列 (Ac') の
5' 側に含んでなるものであり、前記プライマーセットに含まれる第二のプライマーは、前記標的核酸配列の相補
配列の 3' 末端部分の配列 (C) にハイブリダイズする配列 (Cc') を 3' 末端部分に含んでなり、かつ相互にハイ
ブリダイズする 2 つの核酸配列を同一鎖上に含む折返し配列 (D-Dc') を前記配列 (Cc') の 5' 側に含んでなるも
のである。